

RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

## ATIVIDADE BIOESTÁTICA DA PIOCIANINA SOBRE FUNGOS FILAMENTOSOS ISOLADOS DE PAREDE DE CONCRETO

\*<sup>1</sup>Jonas Emanuel Guimarães da Silva, <sup>1</sup>Tarcísio Tarcio Corrêa Bonifácio, <sup>1</sup>Ray Ravilly Alves Arruda, <sup>2</sup>Elisângela Afonso de Moura Kretzschmar and <sup>1</sup>Ulrich Vasconcelos

<sup>1</sup>Laboratório de Microbiologia Ambiental, CBIOTEC, Rua Ipê Amarelo, S/N, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, CEP – 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil

<sup>2</sup>Laboratório de Nanociência e Nanobiotecnologia Industrial, CBIOTEC, Rua Ipê Amarelo, S/N, Universidade Federal da Paraíba, Campus I, CEP – 58051-900, João Pessoa-PB, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 18<sup>th</sup> January, 2020

Received in revised form

14<sup>th</sup> February, 2020

Accepted 11<sup>th</sup> March, 2020

Published online 29<sup>th</sup> April, 2020

#### Key Words:

Fenazinas naturais; Antibiose;  
*Aspergillus niger*; *Penicillium sp.*

\*Corresponding author: Jonas Emanuel  
Guimarães da Silva,

### ABSTRACT

A piocianina é um pigmento fenazínico com propriedades antimicrobianas produzido exclusivamente por *Pseudomonas aeruginosa*. Neste estudo, sete isolados fúngicos, de cinco gêneros diferentes, foram obtidos de uma parede de concreto pintado localizada no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba. Os isolados foram submetidos às concentrações de piocianina variando de 8,75 a 140 µg/mL. A atividade antimicrobiana da piocianina frente os isolados fúngicos foi avaliada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima e Concentração Fungicida Mínima. Em apenas dois dos isolados, identificados como *Penicillium sp.* e *Aspergillus niger*, houve atividade da piocianina na maior concentração testada, entretanto foi observado um efeito bioestático.

Copyright © 2020, Jonas Emanuel Guimarães da Silva et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Jonas Emanuel Guimarães da Silva, Tarcísio Tarcio Corrêa Bonifácio, Ray Ravilly Alves Arruda et al. "Atividade bioestática da piocianina sobre fungos filamentosos isolados de parede de concreto", *International Journal of Development Research*, 10, (04), 35230-35234.

## INTRODUCTION

Os fungos filamentosos são organismos multicelulares complexos, habitantes comuns de diferentes ecossistemas, exercendo o importante papel de transformação da matéria orgânica e inorgânica (Gulise Bärloche, 2017). Neste contexto, as superfícies interiores e exteriores de paredes pintadas podem se caracterizar como um local propício para a colonização fúngica. Estes ambientes são cenários propícios ao desenvolvimento de fungos uma vez que apresentam certa umidade e poeira, promovendo o acúmulo de nutrientes essenciais para o desenvolvimento das colônias (Khan e Karuppaiyil, 2012). O crescimento fúngico em paredes não é meramente uma questão estética, uma vez que estes microrganismos estão implicados nos processos de deterioração de superfícies de concreto (Ishfaq et al., 2015). O desenvolvimento de fungos em paredes também representa risco à saúde, visto que esporos e fragmentos de hifas são facilmente dispersos no ar, podendo ocasionar micoses

respiratórias, bem como episódios alérgicos, em pessoas suscetíveis e vulneráveis (Grbić et al., 2012). Neste sentido, a busca por substâncias com propriedades inibitórias do crescimento fúngico é encorajada. Estas substâncias podem contribuir para a prevenção do desenvolvimento de biofilmes nas paredes, especialmente porque podem servir como adjuvantes nas formulações de tintas e coberturas, permitindo a conservação da estrutura por maior tempo e substituindo metais tóxicos (Zielecka et al., 2011). Dentre estas substâncias, moléculas bioativas biodegradáveis e com baixa toxicidade são socialmente mais aceitas e representam um vasto campo de investigação, com especial atenção aos metabólitos secundários, tais como pigmentos, produzidos por plantas e outros organismos (Al-Jumaili et al., 2018). A piocianina é um pigmento fenazínico de cor azul brilhante, sintetizado por 90-95% das linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* (Oliveira et al., 2019), bactéria Gram-negativa aeróbia, cujas características fisiológicas e bioquímicas, fazem dela, um organismo importante do ponto de vista das interações interespecíficas (Arruda et al., 2020, Abdul-Hussein et al.,

2016, Jayaseelan *et al.*, 2014). O mecanismo da ação antimicrobiana da piocianina envolve reações de oxidação-redução, com formação e acúmulo de íon superóxido, bem como do peróxido de hidrogênio (Müller e Merret, 2014). Visto isto, o objetivo do presente trabalho foi isolar fungos filamentosos de uma parede externa, exposta à ação das variações das condições climáticas naturais e avaliar a atividade antifúngica da piocianina sobre estes isolados.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coleta, isolamento e identificação dos fungos filamentosos :

Os fungos foram coletados em maio de 2018 da parte inferior, cerca de 1 m de distância do solo, de uma parede externa, localizada no Centro de Biotecnologia da Universidade Federal da Paraíba, localizada nas coordenadas -7°14'1332"S e -34°84'6570"W (Fig. 1). As amostras foram obtidas por meio de raspagem, sob condições assépticas, com auxílio de uma espátula esterilizada e um molde de plástico autoclavado à 121°C, cuja área de contato com a parede media 4 cm<sup>2</sup>. A coleta foi realizada em cinco pontos, totalizando uma área de 20 cm<sup>2</sup> (Dias *et al.*, 2016). O material coletado foi transferido para frascos contendo solução tampão fosfato estéril (pH=7,0) (ANVISA, 2004). Após processamento, o material foi inoculado em placas contendo agar dextrose-batata (BDA) e agar Sabouraud-dextrose 2% (SDA), incubadas por 7 dias à 30°C. A identificação dos isolados foi conduzida pela técnica da cultura em lâminula. Em uma placa de Petri contendo SDA foram transferidos pequenos fragmentos fúngicos. Em seguida foi inserida uma lâminula limpa e previamente desinfetada sobre os fragmentos fúngicos. As placas foram deixadas à temperatura ambiente por 96h. A cada intervalo de 24h, uma lâminula foi retirada e corada com uma gota de azul lactofenol de algodão para observação *a posteriori* das estruturas sexuais (Alves e Lopes, 2008). O crescimento radial dos isolados foi realizado como ensaio complementar, por meio de medição do diâmetro da colônia (em milímetros) desenvolvida em SDA, a cada 24h, durante 14 dias. Os isolados identificados foram cadastrados no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob número A6D0C2F.

**Piocianina:** Foi empregada piocianina com elevado teor de pureza (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA), reconstituída em solução hidroalcolica 10% e mantida à -4°C, conforme instruções do fabricante. A maior concentração preparada foi de 240 µg/mL do pigmento.

### Determinação das Concentrações Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM):

A CIM e CFM da piocianina sobre os isolados fungos foi realizada empregando a técnica da microdiluição (Martins *et al.*, 2014). Em cada poço foram adicionados 100µL de Caldo Sabouraud-dextrose 2% (SDB) duplamente concentrado. Em seguida, foram transferidos 100µL da solução de piocianina, cujas concentrações variaram de 140 a 8,75 µg/mL, e por meio de uma diluição seriada 1:2. Por fim, foram adicionados 10 µL do inóculo fúngico (10<sup>6</sup> esporos/mL) nas cavidades. O controle do teste foi realizado em SDB sem adição de piocianina. As microplacas foram incubadas por 48h à 30°C. A CIM foi descrita como a menor diluição na qual se verificou ausência de crescimento fúngico (Pfaller *et al.*, 1995), enquanto a CFM, a concentração na qual não houve crescimento a partir da transferência de 10 µL dos poços referentes à 2xCIM, CIM e

2÷CIM para nova microplaca contendo SDB e incubação à 30°C por 48h (Cavalcante *et al.*, 2018).

**Dados sobre condições climáticas:** Os valores médios de temperatura (°C) e umidade relativa do ar (g/m<sup>3</sup>) referentes ao período de cinco dias anteriores à coleta foram obtidos dos dados disponíveis do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), disponível em <http://www.inmet.gov.br/portal/>.

**Análise estatística:** Os resultados estão apresentados como a média e desvio padrão dos testes realizados em triplicata.

## RESULTADOS

**Isolamento:** As médias de temperatura e umidade relativa do ar nos cinco dias que antecederam a coleta foram respectivamente de 25,7°C e 84,1 84,1 g/m<sup>3</sup>. Sete exemplares fúngicos foram isolados das colônias predominantes nas placas contendo SDA, identificados em seguida como membros de cinco gêneros: *Penicillium* (2), *Fusarium*(1), *Trichoderma*(2), *Tricophyton*(1) e *Aspergillus*(1), este último identificado como *A. niger* (Figura 2). Todos os isolados apresentaram a média de 90 mm no diâmetro dos halos de crescimento após 14 dias de incubação.

**Sensibilidade dos isolados à piocianina:** Dos sete isolados, apenas dois exibiram sensibilidade à piocianina, *A.nigere* *Penicillium sp.*, na concentração de 140 µg/ml (Tabela 1). Esta concentração foi inibitória, porém não fungicida, indicativo do efeito fungistático da piocianina aos isolados selvagens.

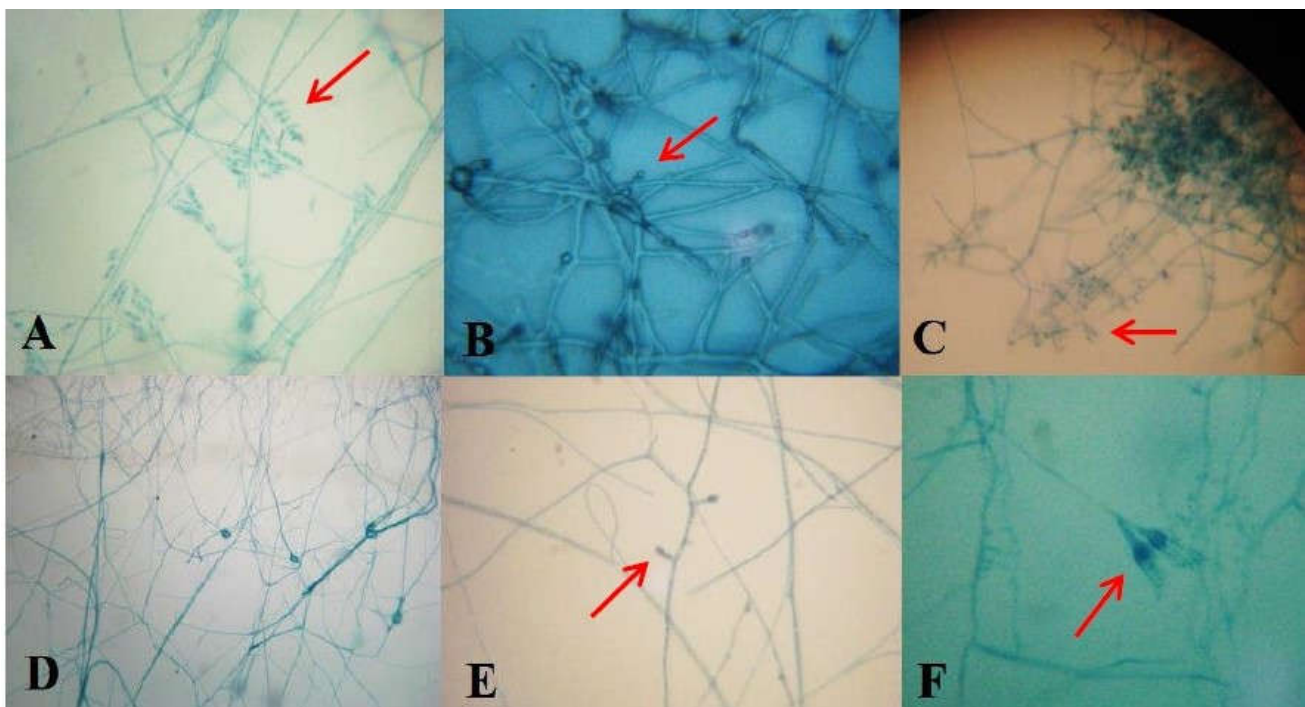
## DISCUSSÃO

A colonização de paredes de concreto por fungos filamentosos é motivo de preocupação, seja pelos aspectos estéticos e de preservação de patrimônios envolvidos (Yakovleva *et al.*, 2018), seja por questões de saúde pública (Shirakawa *et al.*, 2002). É importante salientar que a exposição aos fragmentos fúngicos pode ocasionar doenças relacionadas ao sistema respiratório, bem como aumenta a probabilidade de sensibilização alérgica e dermatofitoses (Sahoo e Mahajan, 2016). Assim, se faz necessário o conhecimento dos fungos filamentosos ocorrentes para que sejam formuladas estratégias visando inibir a colonização. As condições climáticas (temperatura e umidade) à época da amostragem indicaram que o ambiente estava propício para a instalação de fungos filamentosos. Geralmente o grau de umidade relativa do ar superior a 70% e temperatura entre 16 e 35°C são considerados favoráveis ao desenvolvimento e à atividade fúngica (Rosado *et al.*, 2013; Guerra, 2012). Os fungos anemófilos têm preferência por se instalar em certas áreas com condições ideais de umidade e iluminação, como no caso de paredes externas. Nestes ambientes, os fungos podem se organizar em comunidades complexas, conferindo maior resistência aos estresses exercidos pelo meio, tendo o processo de corrosão do concreto como consequência do seu metabolismo (Erich e Baukha, 2016). Neste estudo foram identificados isolados membros dos gêneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Tricophyton*, além de *A.niger*. Todos os gêneros representam espécies consideradas anemófilas, hábeis em formar biofilmes como estratégia de resistência às condições desfavoráveis ambientais, garantindo sua permanência em locais, tais como paredes de concreto (Harding *et al.*, 2009).



Fonte: adaptado de Google Maps. Disponível em: <<https://www.google.com.br/maps/@-7.1431727,-34.8470019,127a,35y,8.43h,56.41t/data=!3m1!1e3>>

**Fig. 1.** Vista aérea do Centro de Biotecnologia da UFPA com destaque para a parede da coleta (adaptado de Google Maps)



A – *Fusarium* sp., B – *Trichoderma* sp. (isolado 1), C – *Trichoderma* sp. (isolado 2), D – *Tricophyton* sp., E – *Tricophyton* sp., F – *Penicillium* sp.

**Fig. 2.** – Aspectos microscópicos dos isolados fúngicos. As setas indicam as estruturas reprodutivas das espécies

Em complemento, todos os isolados identificados são amplamente descritos na literatura como organismos colonizadores de superfícies de concreto (Shirakawa *et al.*, 2010, Souza *et al.*, 2010, Giannantonio, 2009, Carmo *et al.*, 2007, Gaylarde Gaylarde, 2005, Adeleye e Adeleye, 2000, Mitchell e Gu, 2000, Gaylarde Morton, 1997). Este trabalho se junta a tantos da literatura a identificar a prevalência destes fungos filamentosos em paredes. A colonização por fungos nestas superfícies pode danificar o concreto em função da produção de ácidos orgânicos, bem como pela penetração das hifas (de la Torre *et al.*, 1993). Em seu estudo, Sterflinger (2000) identificou a produção de ácido acético, glucurônico e oxálico como subprodutos do metabolismo de *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. e *Trichoderma* sp., isolados de concreto.

Estes metabólitos podem danificar o concreto por meio da formação de complexos de cálcio insolúveis, que se precipitam da estrutura, resultando em perda de massa e aumento da permeabilidade e porosidade (Gu *et al.*, 1998). Neste estudo tentou-se avaliar a atividade da piocianina sobre os isolados obtidos da parede. O efeito fungistático do pigmento foi identificado, uma vez que a concentração mínima inibitória não levou à morte celular. A utilização de exometabólitos nas relações interespecíficas, nas quais uma espécie se beneficia em detrimento de outra ou há o controle das populações entre organismos coexistentes num mesmo sistema, fundamenta o atual conceito de amensalismo (Arruda *et al.*, 2020). Ocorre que sob condições ambientais naturais, aspectos multifatoriais governam estas relações e as respostas à exposição às elevadas cargas de estresse exercido pelo meio, exigindo uma resposta rápida microbiana envolvendo mecanismos celulares e

moleculares (Li *et al.*, 2014). Isto pode explicar as divergências nos estudos de atividade antimicrobiana da piocianina contra fungos. Embora a piocianina na concentração de 140 µg/mL tenha sido inibitória neste estudo apenas para *A.nigere Penicillium sp.*, Sudhakaret *al.* (2013) observaram semelhante inibição frente outros fungos filamentosos, *A.flavus* e *A.fumigatus* em concentração mais baixa, 64 µg/mL. A inibição também já foi relatada em *Fusarium sp.* (Afzal *et al.*, 2013), contudo o pigmento exibiu efeito fungicida contra formas leveduriformes de *Candida sp.*, e *Cryptococcus neoformans*, sendo atribuído o efeito à propriedade da piocianina interromper a cadeia transportadora de elétrons (Karpagam *et al.*, 2013). Acredita-se que a piocianina atue na diminuição no suprimento de oxigênio para as células, levando ao acúmulo de espécies reativas de oxigênio, em especial íon superóxido e peróxido (Price-Whelan *et al.*, 2007). Sobre o gênero *Trichophytona* atividade da piocianina demanda de concentrações muito elevadas. Em um recente estudo, a concentração inibitória mínima da piocianina contra *T. rubrum* foi de 2000 µg/mL (El-Zawanye Ali, 2016). Por outro lado, o gênero *Trichoderma* é caracterizado por fungos dotados de boas estratégias de resistência no ambiente (Woo *et al.*, 2006), as quais inclui a possibilidade de interação com *P. aeruginosa* (Afzal *et al.*, 2013). Esta associação entre os dois organismos mostrou-se benéfica ao serem empregados como agente de controle de infecções por fungos nas raízes do quiabeiro, resultando no melhoramento do crescimento da planta. *P.aeruginosa* é uma bactéria metabolicamente versátil e que responde bem sob condições simples de cultivo (Vasconcelos *et al.*, 2010). Além disso, a piocianina pode ser produzida em grande quantidade em condições controladas de estresse nutricional (Arruda *et al.* 2019) e seu potencial como agente antimicrobiano é extremamente estimulante. Visto isso, os resultados deste trabalho abrem novas possibilidades de investigação sobre o uso da piocianina como um potencial agente fungicida para coberturas, desde que altas concentrações sejam obtidas e que estudos de estabilidade e toxicidade também estejam previstos.

## Conclusão

A piocianina demonstrou uma ação inibitória para *A. nigere Penicillium sp.*, entretanto a atividade foi bioestática. Esses resultados são sugestivos de que o efeito da piocianina sobre fungos é concentração-dependente. Estudos posteriores com concentrações maiores poderão demonstrar se a piocianina possui um perfil seletivo ou amplo contra fungos filamentosos, direcionando assim, a sua utilização nos variados campos de pesquisa.

**Acknowledgments:** The authors would like to thank CAPES and the Graduate Program in Cellular and Molecular Biology for the grants. We also acknowledge Dr. Adna Cristina Barbosa de Sousa for the fungal identification.

## REFERÊNCIAS

- Abdul-Hussen, Z.R., and Atia, S.S. 2016. Antimicrobial effect of pyocyanin extracted from *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Experiment Biol*. v.6, pp. 1-4.
- Adeleye, I.A., and Adeleye, O.A. 2000. Isolation and identification of microbes associated with paints and weathered painted walls. *J Sci Res Dev*. v. 4, pp. 71-76.
- Afzal, S., Tariq, S., Sultana, V., Ara, J. and Ehteshamul-Haque, S. 2013. Managing the root diseases of okra with endo-root plant growth promoting *Pseudomonas* and *Trichoderma viride* associated with healthy okra roots. *Pak J Bot*. v. 45, pp. 1455-1460.
- Al-Jumaili, A., Kumar, A., Bazaka, K., Jacob, M. V. 2018. Plant secondary metabolite-derived polymers: A potential approach to develop antimicrobial films. *Polymers*. v. 10, pp. 515. doi:10.3390/polym10050515.
- Alves, S.B., and Lopes, R.B. 2008. Controle microbiano de pragas na América Latina: avanços e desafios, FEALQ, Piracicaba, Brasil.
- ANVISA. 2004. Manual de Microbiologia clínica para o controle de infecções em serviços de saúde, 1ª ed., Ministério da Saúde, Brasília, Brasil.
- Arruda, R. R. A., Oliveira, B. T. M., Bonifácio, T. T. C., Morais, V. C., Amaral, I. P. G., and Vasconcelos, U. 2019. Activity of two exometabolites produced by *Escherichia coli* on the synthesis of pyocyanin. *Int J Adv Eng Res Sci*. v. 6, pp. 267-271.
- Arruda, R. R. A., Bonifácio, T. T. C., Oliveira, B. T. M., Silva, J. E. G., and Vasconcelos, U. 2020. Assessment of indole and pyocyanin in the relationship of *Pseudomonas aeruginosa* to *Escherichia coli*. *Int J Develop Res*. v. 10, pp. 34122-34128.
- Carmo, E.S., Belém, L.F., Catão, R.M.R., Lima, E.O; Silveira, I.L., and Soares, L.H.M. 2007. Microbiota fúngica presente em diversos setores de um hospital público em Campina Grande – PB. *Rev Bras Análises Clínicas*. v. 39, pp. 213-216.
- Cavalcante, J. M. N., Siqueira, D. S., Ferreira, J. L. S., Bezerra, R. V., Delgado, L. A., Silva, R. C. M. O., Figueira, R. C., Silva, D. F., Oliveira, H. M. B. F., Lima, E. O., and Oliveira Filho, A. A. 2018. Antifungal activity of the essential oil of *Pogostemon cablin* (Lamiaceae) against *Candida tropicalis* strains. *Int J Pharm Pharm Res: Human*. v. 13, pp. 51-58.
- de La Torre, M.A., Gomez-Alarcon, G., Vizcaino, C., and Garcia, M.T. 1993. Biochemical mechanisms of stone alteration carried out by filamentous fungi living in monuments. *Biogeochemistry*. v. 19, pp. 129-147.
- Dias, D. S. B., Vasconcelos, U., Lutterbach, M. T. S., Cravo-Laureau, C., and Servulo, E. F. C. 2016. Sessile aerobic microbiota from the wall of the national museum, Brazil: characterization and quantification. *Can J Pure Appl Sci*. v. 10, pp. 3941-3949.
- El-Zawawy, N. A., and Ali, S.S. 2016. Pyocyanin as anti-tyrosinase and anti-tinea corporis: A novel treatment study. *Microb Pathogen*. v. 100, pp. 213-220.
- Erich, S.J.F., and Baukha, V. 2016. Modelling biocide release based on coating properties. *Prog Org Coatings*. v. 90, pp. 171-177.
- Gaylarde, C.G., and Gaylarde, P. M. 2005. A comparative study of the major microbial biomass on exterior buildings in Europe and Latin America. *Int Biodeterior Biodegrad*. v. 55, pp. 131-139.
- Gaylarde, C. C., and Morton, L. H. G. 1997. The importance of biofilms in microbial deterioration of constructional materials. *Rev Microbiol*. v. 28, pp. 221-229.
- Giannantonio, D. J., Kurth, J.C., Kurtis, K.E., and Sobecky, P.A. 2009. Effects of concrete properties and nutrients on fungal colonization and fouling. *Int Biodeterior Biodegrad*. v. 63, pp. 252-259.
- Grbić, M. L., Stupar, M., Vukojevic, J., Maricic, I., and Bangur, N. 2012. Molds in museum environments:



- Biodeterioration of art photographs and wooden sculptures. *Arch Biol Sci.* v. 65, pp. 955-962.
- Gu, J.D., Ford, T.E., Berke, N.S., and Mitchell. 1998. Biodeterioration of concrete by the fungus *Fusarium*. *IntBiodeteriorBiodegrad.*v. 41, pp. 101-109.
- Guerra, F. L., Cunha, E. G., Silva, A. C. S. B., andKmpop, S. 2012. Análise das condições favoráveis à formação de bolor em edificação histórica de Pelotas, RS, Brasil. *AmbienteConstruído.* v. 12, pp. 7-23.
- Gulis, V., and Bärloche, F. Fungi: Biomass, Production, and Community Structure. In: Hauer, F. R and Lamberti, G.A. (ed) *Methods in Stream Ecology, Volume 1* (2017) Academic Press, Burlington, USA, pp. 177-192, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416558-8.00010-X>.
- Harding, M.W., Marques, L.L.R., Howard, R.J., and Olson, M.E. 2009. Can filamentous fungi form biofilms?*Trends Microbiol.* v. 17,pp. 475-480.
- Ishfaq, S., Ali, N., Tauseef, I., Khattak, M.N.K., Shinwari, Z.K., and Ali, M.I. 2015. Analysis of paint degradation by fungal and bacterial species. *Pak J Bot.* v. 47, pp. 753-760.
- Jayaseelan, S., Ramaswamy, D., and Dharmaraj, S. 2014. Pyocyanin: production, applications, challenges and new insights. *World J Microbiol Biotechnol.* v. 30, pp. 1159-1168.
- Karpagam, S., Sudhakar, T., and Lakshmipathy, M. 2013. Microbicidal response of pyocyanin produced by *P. aeruginosa* toward clinical isolates of fungi.*Int J Pharm Pharm Sci.* v. 5, pp. 870-873.
- Khan, A.A.H., and Karuppayil, S. M. 2012. Fungal pollution of indoor environments and its management. *Saudi J BiolSci.* v. 19, pp. 405-426.
- Li, S-J., Hua, Z-S., Huang, L-N., Li, J., Shi, S-H., Chen, L-X., Kuang, J-L., Liu, J., Hu, M., Shu, W-S. 2014. Microbial communities evolve faster in extreme environments. *Scientific Reports.* v. 4, n. 6205, doi:10.1038/srep06205.
- Martins, M.R., Arantes, S., Candeias, F., Tinoco, M.T., andCruz-Morais, J.2014. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol.* v. 151, pp. 485-492.
- Mitchell, R., and Gu, J.D. 2000. Changes in the biofilm microflora of limestone caused by atmospheric pollutants. *Int BiodeterBiodegrad.*v. 46, pp. 299-303.
- Müller, M., and Merrett, N. 2014. Pyocyanin production by *Pseudomonas aeruginosa* confers resistance to ionic silver.*Antimicrob Agents Chemother.* v. 58, pp. 5492-5499.
- Oliveira, B. T. M., Barbosa, P. S. Z., Cavalcanti, T. G., Amaral, I. P. G., andVasconcelos, U. 2019. Craft beer waste as substrate for pyocyanin synthesis. *J Pharm Biol Sci.* v. 14, pp. 21-25.
- Pffaler, M. A., Messer, S. A., and Coffmann, S. 1995. Comparison of visual and spectrophotometric methods of MIC endpoint determinations by using broth microdilution methods to test five antifungal agents, including the new triazole D0870. *J Clin Microbiol.* v. 33, pp. 1094-1097.
- Price-Whelan, A., Dietrich, L.E., Newman, D.K. 2007. Pyocyanin alters redox homeostasis and carbon flux through central metabolic pathways in *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *J Bacteriol.* v. 189, pp. 6372-6381.
- Rosado, T., Gil, M., Mirão, J., Candeias, A., andCaldeira, A.T. 2013. Oxalate biofilm formation in mural paintings due to microorganisms – A comprehensive study. *Int BiodeteriorBiodegrad.* v. 85, pp. 1-7.
- Sahoo, A.K., and Mahajan, R. 2016. Management of *tinea corporis*, *tinea cruris*, and *tinea pedis*: A comprehensive review. *Ind Dermatol Online J.* v. 7, pp. 77-86.
- Shirakawa, M. A., Gaylarde, C.C., Gaylarde, P.M., John, V., and Gambale, W. 2002. Fungal colonization and succession on newly painted buildings and the effect of biocide. *FEMS Microbiol Ecol.* v. 39, pp. 165-173.
- Shirakawa, M.A., Tavares, R.G., Gaylarde, C.C., Taqueda, M.E.S., Loh, K., and John, V.M. 2010. Climate as the most important factor determining anti-fungal biocide performance in paint films. *Sci Total Environ.*v. 408, pp. 5878-5886.
- Souza, A. E. F., Souza, E. F., Costa, H. A., Barbosa, Y. W. F., Souza Junior, U. P., andVieira, K. V. M. 2010. Microbiota fúngica anemófila de hospitais da rede pública da cidade de Campina Grande – PB. *Revista de Biologia e Farmácia.* v. 4, pp. 102-116.
- Sterflinger, K. 2000. Fungi as geologicagents. *Geomicrobiol J.* v. 17, pp. 97-124.
- Sudhakar, T., Karpagam, S., and Shiyama, S. 2013. Antifungal efficacy of pyocyanin produced from bioindicators of nosocomial hazards. *Int J ChemTech Res.*v. 5, p. 1101-1106.
- Vasconcelos, U., Lima, M.A.G.A., and Calazans, G.M.T. 2010. *Pseudomonas aeruginosa* associated with negative interactions on coliform bacteria growth. *Can J Pure Appl Sci.* v. 4, pp. 1133-1139.
- Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., and Lorito, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi and plants. *Phytopathol.* v. 96, pp. 181-185.
- Yakovleva, G., Sagadeev, E., Stroganov, V., Kozlova, O., Okunev, R., and Ilinskaya, O. 2018. Metabolic activity of micromycetes affecting urban concrete constructions. *Sci World J.* v. 2018, doi:10.1155/2018/8360287
- Zielecka, M., Bujnowska, E., Kępska, B., Wenda, M., and Piotrowska, M. 2011. Antimicrobial additives for architectural paints and impregnates. *Prog Org Coatings.* v. 72, pp. 193-201, doi: 10.1016/j.porgcoat.2011.01.012.

\*\*\*\*\*